

Dipl.-Biol. Kati Rehberg

„Die funktionelle Bedeutung der Serin/Threonin-Kinase Ndr2 in Integrin-Signalwegen für die Differenzierung neuronaler Zellen“

Zusammenfassung

Im sich entwickelnden Nervensystem werden die Prozesse zur Differenzierung von Neuronen, wie zum Beispiel das Auswachsen und die Verzweigung der Neuriten, über die Aktivität von Proteinkinasen und -phosphatasen reguliert. Für die Mitglieder der Ndr-Serin/Threonin-Kinasefamilie Trc, Warts und SAX-1 aus der Fruchtfliege *D. melanogaster* bzw. dem Nematoden *C. elegans* ist bereits seit längerem bekannt, dass sie Aktin-abhängige morphologische Wachstumsprozesse regulieren, insbesondere die Verzweigung und das *tiling* der Dendriten sensorischer Neurone. In der hier vorliegenden Arbeit untersuchte ich die potentielle Funktion der säugetierspezifischen Ndr-Kinase Ndr2 in der Differenzierung von Neuronen des ZNS. Anhand hippokampaler Primärneurone konnte ich beobachten, dass eine Überexpression der Kinase die Verzweigung der Dendriten stark erhöhte, hingegen eine shRNA-vermittelte Inhibierung der Expression von Ndr2 zu einer massiven Reduktion der dendritischen Verzweigung führte. Dabei zeigte sich, dass Ndr2 das Auswachsen der Dendriten abhängig von einer Integrin-vermittelten Zelladhäsion regulierte. Weiterhin konnte ich nachweisen, dass Ndr2 den Gehalt aktivierten $\beta 1$ -Integrins in den Wachstumskegeln differenzierter PC12-Zellen reguliert. Biochemische sowie zellbiologische Analysen zeigten darüber hinaus, dass Ndr2 an die GTPase Dynamin bindet und sowohl in hippokampalen Primärneuronen als auch in PC12-Zellen mit dem Endozytose/Exozytose-Signalweg der Integrine interagiert. Aufgrund dieser gewonnenen Daten vermute ich, dass Ndr2 die Aktivität der Integrine zum einen über ein Recycling der Zelladhäsionsmoleküle in der Plasmamembran und zum anderen über eine funktionelle Beteiligung in einem *inside-out*-Signalweg reguliert und dadurch das Auswachsen und die Verzweigung der Dendriten von Neuronen im sich entwickelnden Nervensystem kontrolliert. Weiterhin konnte ich anhand der biochemischen und morphologischen Charakterisierung eines konditionalen Ndr2-transgenen Mausmodells beobachten, dass sich in Folge einer Überexpression von Ndr2 im Hippokampus die Dichte der suprapyramidalen Moosfaserterminalien der Körnerzellen stark verringerte. Diese morphologische Veränderung legt somit die Vermutung nahe, dass Ndr2 neben der Regulation der Verzweigung von Dendriten auch das Auswachsen von Axonen während der Entwicklung des ZNS kontrollieren könnte.

Neben der Regulation von Wachstumsprozessen im sich entwickelnden ZNS unterliegen im adulten Gehirn die Prozesse der Gedächtnisbildung ebenfalls einer Neu- bzw. Umstrukturierung des Aktinzytoskeletts. Interessanterweise wird sowohl β -Aktin als auch die Aktin-bindende Kinase Ndr2 sechs Stunden nach einer Furchtkonditionierung vermehrt in der BLA exprimiert. Daher untersuchte ich in einem weiteren Teil meiner Arbeit, ob diese Expressionsregulation mit einer von der Dynamik der Aktinfilamente abhängigen kritischen Phase in der BLA korreliert. In der Tat konnte ich zeigen, dass eine Blockade der Aktindynamik in der BLA

durch eine Behandlung mit Phalloidin nur in dem Zeitraum zwischen 6 und 12 Stunden nach der Akquisition bzw. der Reaktivierung zu einer Beeinträchtigung eines tonassozierten Furchtgedächtnisses führte. Dies weist darauf hin, dass sowohl die Konsolidierung als auch die Rekonsolidierung von Gedächtnisinhalten einer zeitlich koordinierten strukturellen Reorganisation der Aktinfilamente in der BLA unterliegt. Weiterhin zeigten die gewonnenen Daten, dass die Regulation der Expression von Ndr2 zeitlich mit der strukturellen Dynamik der Aktinfilamente in der BLA korreliert. Dies könnte somit ein Hinweis darauf sein, dass Ndr2 in der Bildung eines emotionalen Gedächtnisses involviert ist.